

УДК: 619:615.9:636.52/.58

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ *BACILLUS SUBTILIS* ПРИ МИКОТОКСИКОЗАХ ЦЫПЛЯТ

Труфанов О. В., Котик А. Н., Труфанова В. А., Чорная А. В.
Институт птицеводства УААН

Резюме. Изучено профилактическое действие пробиотических препаратов на основе *Bacillus subtilis* 44-р, *B. subtilis* 090 и *B. subtilis* 8130 при Т-2 и НТ-2 токсикозах цыплят. Позитивное действие *B. subtilis* 44-р проявлялось в повышении живой массы и снижении относительной массы печени. Препарат на основе *B. subtilis* 090 положительно влиял на среднесуточный прирост живой массы, относительную массу сердца, почек и концентрацию общего белка в плазме крови при НТ-2 и Т-2 токсикозах цыплят. Совместное применение препаратов на основе *B. subtilis* 090 и *B. subtilis* 8130 нормализовало живую массу, относительную массу сердца и содержание креатинина в плазме крови цыплят.

Ключевые слова: Т-2 токсин, НТ-2 токсин, микотоксикоз, пробиотики, цыплята, *Bacillus subtilis*.

Summary. It was studied the prophylaxis action of probiotic preparations on the base of *Bacillus subtilis* 44-р, *B. subtilis* 090 и *B. subtilis* 8130 under Т-2 and НТ-2 toxicosises. The increase of the live weight and the decrease of the liver weight were observed as a result of the positive action of *B. subtilis* 44-р. *B. subtilis* 090 acted positively on the value of average daily weight gain, heart and kidney relative weight and total protein concentration in blood plasma under Т-2 and НТ-2 toxicosises of chickens. The combined use of *B. subtilis* 090 and *B. subtilis* 8130 for Т-2 and НТ-2 toxicosises treatment led to normalization of body weight, heart relative weight and creatinine content in blood plasma of chickens.

Key words: Т-2 toxin, НТ-2 toxin, mycotoxicosis, probiotics, chickens, *Bacillus subtilis*.

Введение. С целью профилактики микотоксикозов животных применяют разнообразные по механизму действия средства: сорбенты, пробиотические препараты, окислители, гидролитические ферменты, витамины и антиоксиданты [1, 2, 3].

Перспективным методом профилактики микотоксикозов является применение пробиотических препаратов. Применение дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* снижало остроту протекания афлатоксикоза, а *S. boulardii* — охратоксикоза цыплят-бройлеров [4, 5]. При скармливании бройлерным цыплятам корма, контаминированного дезоксиниваленолом, возникали морфологические изменения в двенадцатиперстной и тонкой

кишках, тогда как скармливание пробиотика на основе *Eubacterium sp.* улучшало состояние этих органов [6]. Показано, что коммерческий штамм *Eubacterium* BBSH трансформирует трихотеценовые микотоксины типов А и В путем гидролиза эпоксидной и сложноэфирных групп, в результате чего образуются соответствующие дезокси-производные [7]. Концентрация НТ-2 токсина снижалась при инкубации в среде с инактивированными клетками молочнокислых бактерий штаммов *Lactobacillus rhamnosus* GG и LC-705. Механизмом данного процесса считают не биотрансформацию, а сорбцию микотоксина компонентами клеточных стенок [8].

Бактерия *Bacillus subtilis* вызывает интерес при создании пробиотических препаратов благодаря ее способности к продукции широкого спектра биологически активных веществ, к которым относятся органические кислоты (продукты брожения), гидролитические ферменты, антибиотики, поверхностно-активные вещества, аминокислоты и витамины [9]. Известно, что при воздействии стрессовых факторов, таких как повышение температуры или кислотности среды, в организме *B. subtilis* активируется синтез ферментов суперсемейства α/β -гидролаз, в частности эстеразы и эпоксидгидролазы [10], которым присуща способность к биотрансформации микотоксинов.

Целью настоящей работы было изучить профилактическое действие различных штаммов *B. subtilis* при экспериментальных Т-2 и НТ токсикозах цыплят.

Материалы и методы. Опыты проводили на цыплятах, начиная с суточного возраста в течение 28—31 суток. Цыплят содержали в клеточных батареях с соблюдением рекомендованных технологических параметров. Кормили полнорационным комбикормом дважды в день в соответствии с нормами кормления. Поили водопроводной водой *ad libitum*.

Для опыта по изучению профилактического действия *B. subtilis* 44-р (препарат БПС-44) было сформировано 8 групп (по 10 голов) цыплят породы род-айленд: 1 и 5 — контрольные, 2 и 6 — получали соответственно НТ-2 токсин и Т-2 токсин, группы 3 и 7 — препарат БПС-44, группы 4 и 8 — препарат БПС-44 вместе с НТ-2 или Т-2 токсином. Препаратом *B. subtilis* 44-р (БПС-44) поили ежедневно с уровнем дозы 0,4 г на 50 голов в сутки.

Во втором опыте использовали 7 групп цыплят род-айленд по 10 голов. Первая группа — контрольная. В корм 2—4 групп вносили НТ-2 токсин, 5—7 — Т-2 токсин. Цыплят третьей, четвертой, шестой и седьмой групп поили пробиотическим препаратом *B. subtilis* 090 («Моноспорин ПК») с уровнем дозы 3 мл на 100 голов в сутки. В корм четвертой и седьмой групп включали препарат *B. subtilis* 8130 («Бацелл») в количестве 2 г на кг корма.

T-2 и НТ-2 токсины вносили в корм в виде растворов в этаноле с концентрациями 1 мг/мл в количестве соответственно 10 и 16 мл на 1 кг корма.

В течение опытных периодов регистрировали проявления признаков некротического стоматита, прирост живой массы, сохранность и причины падежа. По окончании опытов цыплят взвешивали, усыпляли, декапитировали, осуществляли забор крови и проводили вскрытие тушек. Остатки тушек утилизировали в чешской яме. Внутренние органы взвешивали, регистрировали наличие и характер патоморфологических изменений. В плазме крови определяли концентрацию общего белка биуретовым методом, общего холестерина методом Илька, мочевой кислоты методом Мюллера-Зейферта, креатинина методом Яффе-Поппера, общих липидов по реакции с сульфифосфорнованилиновым реактивом, в крови — концентрацию гемоглобина гемоглобинцианидным методом с использованием наборов реактивов «Филисит», Украина, в соответствии с инструкциями.

Математическую и статистическую обработку полученных данных проводили с использованием „правила трех сигм”, метода множественных сравнений Шефе и метода ранговых сумм Фридмана [11].

Результаты и обсуждение

Опыт 1. Применение препарата *B. subtilis* 44-р при T-2 и НТ-2 токсикозах цыплят. Скармливание корма, контаминированного T-2 токсином или НТ-2 токсином, вызывало снижение живой массы цыплят на 8—13% относительно контрольной группы и на 7—16% относительно группы, получавшей только препарат. Средняя живая масса цыплят, получавших T-2 токсин или НТ-2 токсин во время поения препаратом БПС-44, не отличалась от живой массы цыплят контрольной группы в течение всего опытного периода (рисунок).

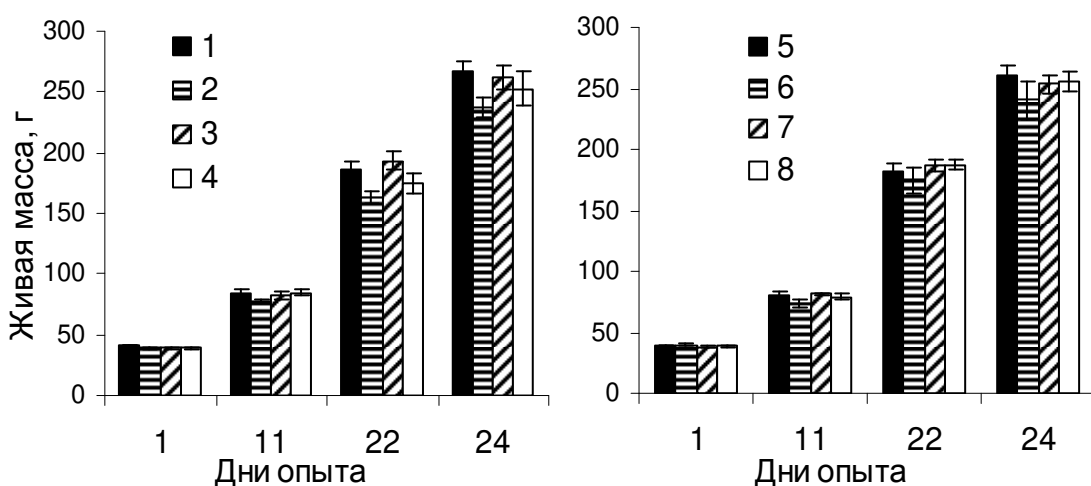


Рис. Живая масса цыплят в различные дни опыта.

Характерным эффектом действия исследуемых микотоксинов было повышение относительной массы печени и почек. Скармливание цыплятам

корма с Т-2 токсином привело к повышению относительной массы печени на 11% ($p < 0,05$), а с НТ-2 токсином — почек на 17% ($p < 0,01$). При выпаивании цыплят препаратом *B. subtilis 44-p* наблюдалось смягчение негативного действия микотоксинов. Так, скармливание цыплятам корма с Т-2 токсином совместно с выпаиванием препаратом приводило к снижению относительной массы печени на 12% ($p < 0,05$) по сравнению с цыплятами, которые получали только Т-2 токсин.

Опыт 2. Применение препаратов *B. subtilis 090* и *B. subtilis 8130* при Т-2 и НТ-2 токсикозах цыплят. При выпаивании цыплят препаратом *B. subtilis 090* на фоне Т-2 токсикоза наблюдалась нормализация живой массы, а относительная масса сердца и почек была, соответственно, на 9 и 21% ниже, чем в группе, получавшей только Т-2 токсин. У цыплят, которых выпаивали *B. subtilis 090* на фоне НТ-2 токсикоза, средний прирост живой массы не отличался от контрольного показателя. Относительная масса почек у цыплят, получавших НТ-2 токсин и *B. subtilis 090*, была на 21% ниже, а концентрация общего белка в плазме крови на 23% выше, чем у цыплят, которые получали только НТ-2 токсин (таблица).

Таблица. Влияние препаратов *B. subtilis 090* и *B. subtilis 8130* на биохимические показатели крови цыплят при НТ-2 и Т-2 токсикозах

№№ групп	Гемоглобин, г/л	Общий белок, г/л	Мочевая кислота, ммоль/л	Креатинин, мкмоль/л
1 Контроль	141±12 (7, 3)	40,1±3,7 (5, 6, 7)	0,12±0,04 (7, 2, 3)	27,4±1,8 (5, 7, 2)
2 НТ-2 токсин	109±7	34,0±4,9 (3)	0,25±0,06 (1)	30,0±1,6 (1)
3 НТ-2 + <i>B. subtilis 090</i>	88±11 (1)	44,0±3,8 (2, 4)	0,23±0,04 (1)	30,0±1,7
4 НТ-2 + <i>B. subtilis 090</i> + <i>B. subtilis 8130</i>	112±12	32,1±2,4 (1, 3)	0,22±0,02	28,4±1,7
5 Т-2 токсин	107±13	28,8±3,5 (1)	0,10±0,02 (6, 7)	23,4±2,1 (1)
6 Т-2 + <i>B. subtilis 090</i>	108±12	27,3±2,7 (1)	0,18±0,04 (5)	25,5±1,2
7 Т-2 + <i>B. subtilis 090</i> + <i>B. subtilis 8130</i>	90±9 (1)	28,7±3,1 (1)	0,20±0,04 (1, 5)	23,3±1,6 (1)

Примечание: в скобках указаны номера групп, отличия относительно которых статистически значимы с $p < 0,05$.

Применение одновременно препаратов, содержащих *B. subtilis 090* и *B. subtilis 8130*, на фоне Т-2 токсикоза цыплят привело к увеличению живой массы на 13% по сравнению с группой, получавшей только Т-2 токсин. Живая масса цыплят, которые получали оба препарата при НТ-2 токсикоze, не отличалась от этого показателя в контрольной группе.

Следует отметить нормализацию относительной массы сердца и содержания креатинина в плазме крови при комплексном применении пробиотических препаратов.

Таким образом, профилактическое действие препаратов на основе *B. subtilis* при Т-2 и НТ-2 токсикозах имеет системный характер, что выражается в нормализации ряда показателей, отражающих функциональное состояние различных систем органов. Это является свидетельством антитоксического действия бактерий этого вида при хронических отравлениях цыплят трихотеценовыми микотоксинами типа А.

Список литературы

1. Protective effect of antioxidants against free radical-mediated lipid peroxidation induced by DON or T-2 toxin. / A. Rizzo, F. Atroschi, M. Ahotupa, [et al.] // J. Vet. Med. — 1994. — Vol. 41. — P. 81—90.
2. Dietary selenium protects against acute toxicity of T-2 toxin in rats. / V. A. Tutelvan, L. V. Kravchenko, E. E. Kuzmina [et al.] // Food Addit. Cont. — 1996. — Vol. 7. — P. 821—827.
3. Fricke R. F. Methylthiazolidine-4-carboxylate for treatment of acute T-2 toxin exposure / R. F. Fricke, J. Jorge // J. Appl. Toxicol. — 1991. — Vol. 11. — P. 135—140.
4. Agawane S. B. Effect of probiotic containing *Saccharomyces boulardii* on experimental ochratoxicosis in broilers: hematobiochemical studies / S. B. Agawane, P. S. Lonkar // J. Vet. Sci. — 2004. — V. 5, No. 4. — P. 359—367.
5. Celyk K. Reduction of toxic effects of aflatoxin B1 by using baker yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in growing broiler chicks diets / K. Celyk, M. Denly, T. Savas // R. Bras. Zootec. — 2003. — V. 32, No. 3. — P. 615-619.
6. Awad W. A. Effect of addition of a probiotic microorganism to broiler diets contaminated with deoxynivalenol on performance and histological alterations of intestinal villi of broiler chickens / W. A. Awad, J. Böhm, E. Razzazi-Fazeli [et al.] // Poult. Sci. — 2006. — V. 85. — P. 974-979.
7. Structural characterization of metabolites after the microbial degradation of type A trichothecenes by the bacterial strain BBSH 797 / E. Fuchs, E. M. Binder, D. Heidler [et al.] // Food Addit. Contam. — 2002. — Vol. 19, № 4. — P. 379—386.
8. Removal of common *Fusarium* toxins in vitro by strains of *Lactobacillus* and *Propionibacterium* / H. S. El-Nezami, A. Chrevatidis, S. Auriola, [et al.] // Food Addit. Contam — 2002. — № 7. — P. 680—686.
9. Stein T. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions / T. Stein // Molecular microbiology — 2005. — Vol. 56, № 4. — P. 845—857.
10. Brody M. S. Catalytic function of an α/β hydrolase is required for energy stress activation of the σ^B transcription factor in *Bacillus subtilis* / M. S.

Brody, K. Vijay, C. W. Price // J. of Bacteriol. – 2001. – V. 183, No 21. – P. 6422–6428.

11. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н.— [2-е изд., перераб. и доп.]. — Киев : Морион, 2001. — 408 с.